

Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/KR05/000472

International filing date: 22 February 2005 (22.02.2005)

Document type: Certified copy of priority document

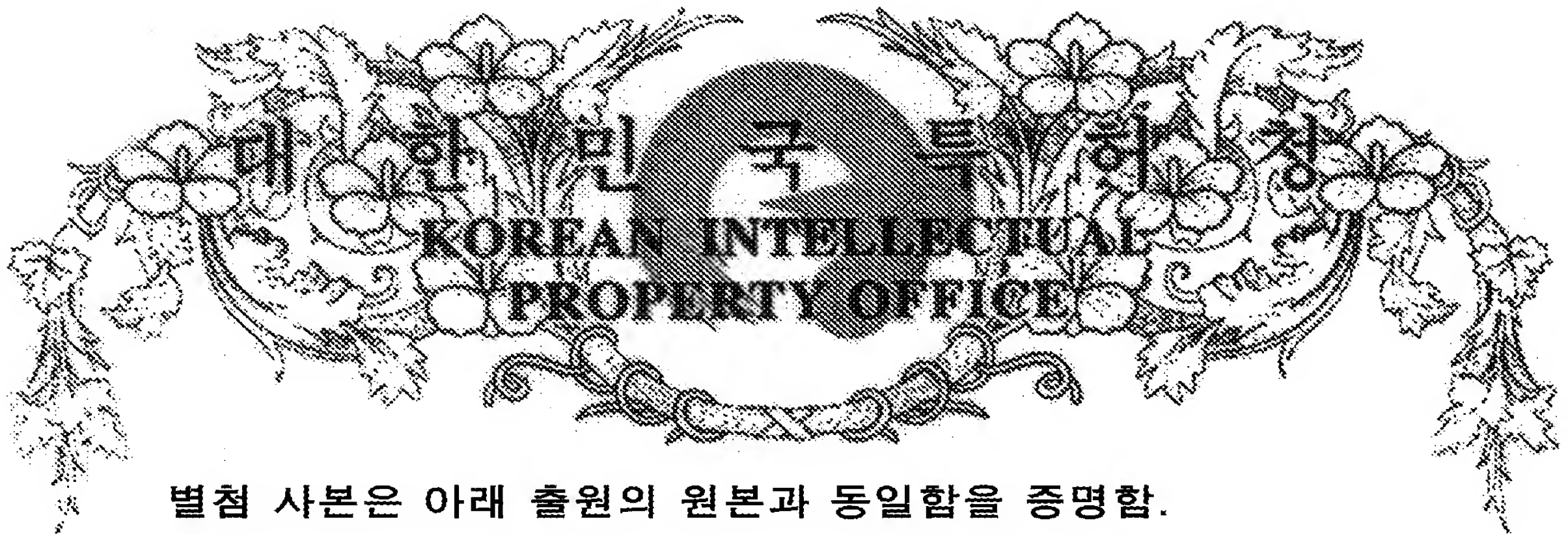
Document details: Country/Office: KR
Number: 10-2004-0112140
Filing date: 24 December 2004 (24.12.2004)

Date of receipt at the International Bureau: 17 May 2005 (17.05.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse



별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

This is to certify that the following application annexed hereto
is a true copy from the records of the Korean Intellectual
Property Office

출원번호 : 특허출원 2004년 제 0112140 호
Application Number 10-2004-0112140

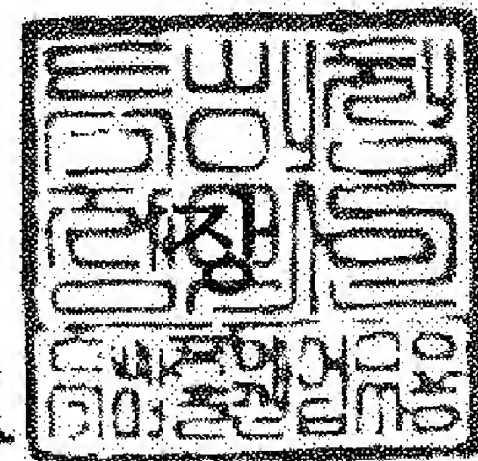
출원일자 : 2004년 12월 24일
Date of Application DEC 24, 2004

출원인 : 한국생명공학연구원
Applicant(s) Korea Research Institute of Bioscience and
Biotechnology

2005 년 04 월 07 일

특 허 청

COMMISSIONER



【서지사항】

【서류명】	특허출원서
【권리구분】	특허
【수신처】	특허청장
【제출일자】	2004. 12. 24
【발명의 국문명칭】	터페노이드계 화합물을 유효성분으로 하는 심장순환계 질환 의 예방 및 치료제
【발명의 영문명칭】	Agent comprising terpenoid compounds for prevention and treatment of cardiovascular disease
【출원인】	
【명칭】	한국생명공학연구원
【출원인코드】	3-1999-034166-5
【대리인】	
【성명】	이원희
【대리인코드】	9-1998-000385-9
【포괄위임등록번호】	2002-029927-3
【발명자】	
【성명의 국문표기】	정태숙
【성명의 영문표기】	JEONG, Tae-Sook
【주민등록번호】	580117-2026112
【우편번호】	302-120
【주소】	대전광역시 서구 둔산동 957번지 파랑새아파트 101-1101
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	이우송
【성명의 영문표기】	LEE, Woo-Song
【주민등록번호】	640302-1923816
【우편번호】	305-755

【주소】	대전광역시 유성구 어은동 한빛아파트 113-602
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	조경현
【성명의 영문표기】	CH0,Kyung-Hyun
【주민등록번호】	680720-1927225
【우편번호】	305-340
【주소】	대전광역시 유성구 도룡동 과기원아파트 2-305
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	김주령
【성명의 영문표기】	KIM,Ju-Ryoung
【주민등록번호】	750205-2551716
【우편번호】	305-308
【주소】	대전 유성구 장대동 303-2 편한빌라 201호
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	임경란
【성명의 영문표기】	IM,Kyoung-Ran
【주민등록번호】	811029-2448918
【우편번호】	302-170
【주소】	대전 서구 갈마동 328-4번지
【국적】	KR
【심사청구】	청구
【취지】	특허법 제42조의 규정에 의한 출원, 특허법 제60조의 규정에 의한 출원심사를 청구합니다. 대리인 이원희 (인)

【수수료】

【기본출원료】	0	면	38,000	원
【가산출원료】	32	면	0	원
【우선권주장료】	0	건	0	원
【심사청구료】	3	항	205,000	원
【합계】	243,000			원

【요약서】

【요약】

본 발명은 티페노이드계 화합물을 유효성분으로 하는 심장순환계 질환의 예방 및 치료제에 관한 것이다.

본 발명에 따른 티페노이드계 화합물은 ACAT에 대한 활성을 효과적으로 억제함으로써, 콜레스테릴 에스테르의 합성 및 축적으로 유발되는 고지혈증 및 동맥경화증과 같은 심장순환계 질환의 예방 및 치료에 유용하게 사용할 수 있다.

【명세서】

【발명의 명칭】

터페노이드계 화합물을 유효성분으로 하는 심장순환계 질환의 예방 및 치료제{Agent comprising terpenoid compounds for prevention and treatment of cardiovascular disease}

【발명의 상세한 설명】

【발명의 목적】

【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】

- <1> 본 발명은 터페노이드계 화합물을 유효성분으로 하는 심장순환계 질환의 예방 및 치료제에 관한 것이다.
- <2> 최근 성인병 증가와 아울러 동맥경화증 등 혈관장애질환이 크게 증가되고 있다. 동맥경화는 뇌동맥 또는 관상동맥에서 일어나기 쉬운데, 뇌동맥경화증의 경우에는 두통, 현기증, 정신장애를 나타내고 뇌연화증의 원인이 되며, 관상동맥경화증의 경우에는 심장부에 동통과 부정맥을 일으켜 협심증, 심근경색 등의 원인이 되는 것으로 알려져 있다. 또한 이로 인해 고혈압, 심장병, 뇌일혈 등이 유발되어, 동맥경화증으로 인한 질병이 현대 사회에 있어, 특히 50~60대의 남성들에게 가장 큰 사망요인으로 부각되고 있다.
- <3> 심장순환계 질환은 혈중 콜레스테롤 농도가 높으면 발병하는 것으로, 혈중 콜레스테롤 농도를 줄이기 위해서는 콜레스테롤 및 지방의 섭취를 줄이는 식이요법

을 시행하거나 지질대사와 관련된 효소를 저해함으로써 콜레스테롤의 흡수를 억제해야 한다. 따라서, 심장순환계 질환의 예방을 목적으로 혈중 총콜레스테롤 농도를 낮출 수 있는 약물을 개발하기 위한 연구가 활발히 진행되어 왔다. 그 결과 인체 내에서 콜레스테롤의 생합성을 저해하는 물질들이 다수 개발되어 상품화 되었다. 그러나 이러한 약물들에 의한 부작용들이 보고되면서 이를 개선하기 위하여, 최근에는 보다 선택적으로 혈중 콜레스테롤만을 조절할 수 있는 화합물을 찾기 위한 연구가 집중적으로 행해지고 있으며, 그 중 대표적인 것이 ACAT 억제제에 관한 것이다.

<4> 아실 코에이: 콜레스테롤 아실전이 효소(acyl-CoA: cholesterol acyltransferase; ACAT)는 일반적으로 콜레스테롤을 에스테르화 하는 효소로서, 그 작용 기작은 크게 체내의 세 부위(장, 간, 그리고 혈관벽 세포)에서 일어난다.

<5> 첫째, 장에서 ACAT는 섭취된 콜레스테롤을 에스테르의 형태로 바꾸어 장내로 흡수되는 것을 촉진시킨다. 둘째, 외부로부터 흡수되거나 체내에서 생합성된 콜레스테롤은 간에서 VLDL(very low-density lipoprotein)이라는 운반체 안에 축적된 후 혈관을 통해 신체 각 기관으로 공급되는데, 이때 ACAT에 의하여 콜레스테롤이 콜레스테릴 에스테르 형태로 전환됨으로써 운반체 내에 콜레스테롤 축적이 가능하게 된다. 셋째, 동맥혈관벽을 이루는 세포내에서 ACAT는 콜레스테롤을 그의 에스테르 형태로 전환시켜 세포내에 콜레스테롤이 축적되는 것을 촉진시키는데, 이는 동맥경화를 일으키는 직접적인 원인이 된다.

<6> 또한, ACAT 활성에 의해 거품세포가 콜레스테롤로부터 유도된 다량의 콜레스테릴 에스테르를 포함하기 때문에, 실험적, 임상적인 측면에서 대식세포와 평활근

세포로부터 유도된 거품세포의 형성은 매우 중요하다. 혈관벽내의 거품세포의 증식은 ACAT 활성 증가와 직접적으로 연관되어 있기 때문에 강력한 항동맥경화제로써 ACAT 저해제의 개발은 바람직하다.

<7> 따라서, ACAT의 활성을 억제하는 약물은 첫째, 장내 콜레스테롤의 흡수를 억제하여 체내로 유입되는 콜레스테롤의 양을 감소시킬 수 있을 것이며, 둘째, 간에서 혈관내로 콜레스테롤이 방출되는 것을 억제하여 혈중 콜레스테롤 농도를 떨어뜨릴 수 있고, 셋째, 혈관벽 세포에 콜레스테롤이 축적되는 것을 방지하여 직접적으로 동맥경화를 예방할 수 있을 것으로 기대된다.

<8> 지금까지 보고된 ACAT 활성 저해제는 쥐간 마이크로솜 ACAT 또는 쥐간 대식세포(J774) ACAT에 대한 활성 저해제이다.

<9> 사람의 ACAT는 사람 ACAT-1 및 사람 ACAT-2가 있는데, 사람 ACAT-1(50 kDa)은 성인의 간, 부신, 대식세포, 신장에서 주로 작용하며, 사람 ACAT-2(46 kDa)는 주로 소장에서 작용한다(Rudel, L. L. et al., Curr. Opin. Lipidol 12, 121-127, 2001). 사람 ACAT 활성을 저해하는 물질은 음식으로부터 유입되는 콜레스테롤의 흡수를 억제하고, 혈관내벽에 콜레스테릴 에스테르의 축적을 억제하는 기작을 통해 고콜레스테롤증, 콜레스테롤 결석 또는 동맥경화 예방 및 치료제의 표적이 되고 있다(Buhman, K. K. et al., Nature Medicine 6, 1341-1347, 2000).

<10> 한편, 비자(榧子, *Torreya nucifera*)는 주목과(Taxaceae)에 속하는 상록 침엽교목으로 전 세계적으로 우리나라와 일본에만 제한되어 분포한다. 비자나무는 식용, 관상용, 공업용, 약용으로 쓰이고, 종자는 먹거나 기름을 짜내서 이용한다. 또

한, 한방과 민간에서는 과실을 구충, 발모, 건위, 조정, 장출혈 등에 약재로 이용하고, 목재는 건축재, 가구재, 선박용재 등에 사용한다(김태정, 한국의 자원식물 I, p40, 서울대학교 출판부, 1996; 육창수, 아세아 생약도감, p23, 도서출판 경원, 1997). 비자나무의 잎과 종자에서 분리·보고된 성분으로는 세스퀴테르페노이드 (sesquiterpenoids, Sakai, T. et al., *Bull. Chem. Soc. Japan*, 38:381, 1965), 라브단(labdane) 계열과 아비에탄(abietane) 계열 디테르페노이드 (diterpenoids, Sayama, Y. et al, *Agric. Bio. Chem.*, 35:1068, 1971; Harrison, L. and Asakawa, Y., *Phytochemistry*, 26:1211, 1987), 및 플라보노이드 (flavonoids, Kariyone, T. and Sawaka, T., *Ykugaku Zasshi*, 78:1010, 1958) 등이 있다.

<11> 이에, 본 발명자들은 부작용이 적은 새로운 고지혈증, 동맥경화증 치료제를 천연물에서 탐색하던 중, 비자나무 추출물로부터 분리해낸 터페노이드계 화합물에서 ACAT 효소에 대한 저해 활성이 우수함을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】

<12> 본 발명은 터페노이드계 화합물을 유효성분으로 하는 심장순환계 질환의 예방 및 치료제를 제공하고자 한다.

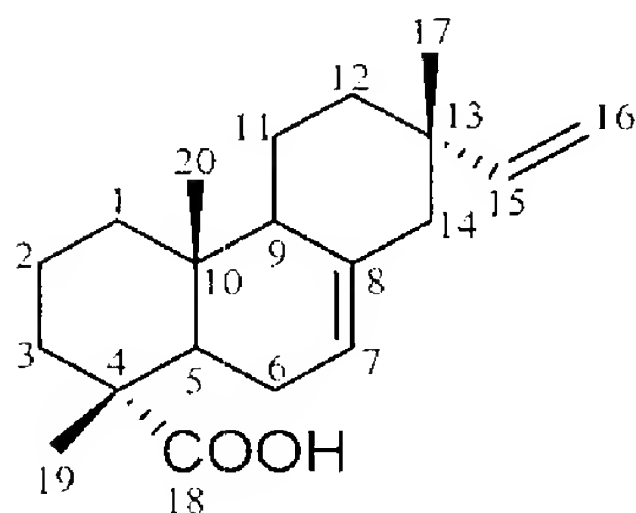
【발명의 구성】

<13> 본 발명은 터페노이드계 화합물을 유효성분으로 하는 심장순환계 질환의 예방 및 치료제를 제공한다.

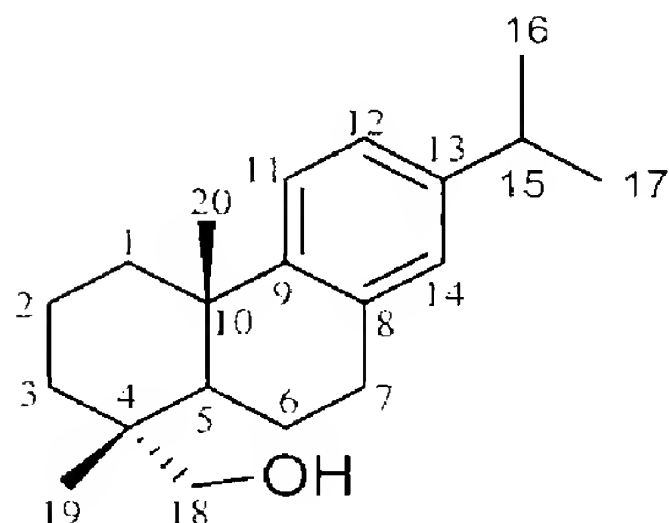
<14> 이하, 본 발명에 대해 상세히 설명한다.

<15> 본 발명은 하기 화학식 1 내지 화학식 4로 표시되는 터페노이드계 화합물 중 어느 하나 또는 그 이상의 화합물을 유효성분으로 하는 심장순환계 질환의 예방 및 치료제를 제공한다.

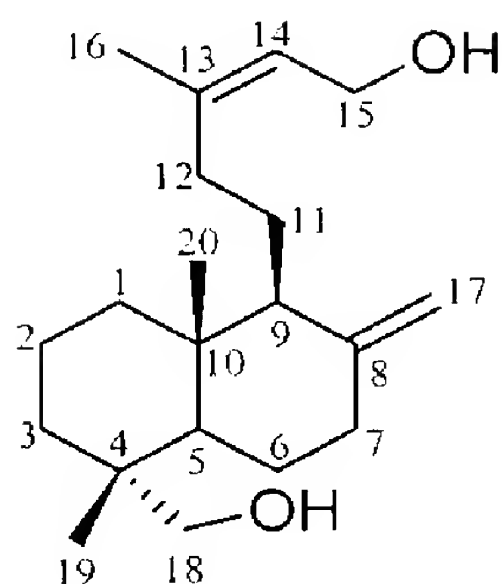
【화학식 1】



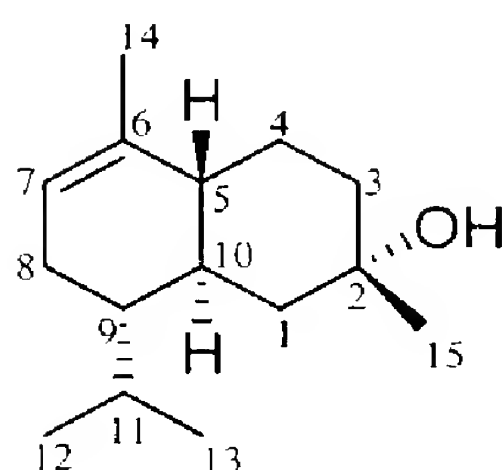
【화학식 2】



【화학식 3】



【화학식 4】



<20> 상기 화학식 1 내지 화학식 4로 표시되는 테페노이드계 화합물 중 화학식 1 및 2의 화합물은 아비에탄 디테페노이드계 화합물인 이소피마릭산(isopimaric acid) 및 데히드로아비에틴올(dehydroabietinol)이며, 화학식 3의 화합물은 라브단 디테페노이드계 화합물인 카야디올(kayadiol)이며, 및 화학식 4의 화합물은 세스퀴테페노이드계 화합물인 델타-카딘올(δ -cadinol)이다. 상기 화합물들은 약학적으로 허용되는 염의 형태로 사용될 수 있으며, 통상의 방법에 의해 제조되는 모든 염,

수화물 및 용매화물이 포함된다.

<21> 본 발명에서 사용되는 터페노이드계 화합물은 통상적인 모든 방법에 의해 얻을 수 있고, 시판되는 시약을 사용할 수 있으며, 본 발명에서는 비자나무로부터 추출·분리·정제하여 사용한다.

<22> 본 발명에 따른 터페노이드계 화합물의 추출, 분리 및 정제방법은 다음과 같다.

<23> 건조된 비자나무 잎 1kg을 메탄올에 넣어 상온에서 3주동안 방치하고 여과지로 여과한 다음, 여액에 착콜을 넣고 실온에서 12시간동안 교반한다. 이 용액을 여과하고 감압하에서 농축하여 노란색의 유성물질을 얻는다. 여기에 물을 넣어 현탁시키고, 여과지를 이용하여 여과한다. 상기에서 얻은 상층을 에틸아세테이트로 녹이고, 농축하여 노란색의 유성물질을 얻는다. 상기에서 얻은 농축액을 디클로로메탄에 녹인 후, n-헥산을 천천히 가하여 재결정을 한 다음 필터글래스를 이용하여 여과하고, 액상을 농축하여 유성물질을 얻는다.

<24> 이때, 상기에서 얻은 오일분획을 사람 아실 코에이: 콜레스테롤 아실전이 효소 1과 2에 대한 억제능을 측정한 결과, 저해효과가 나타난다.

<25> 상기에서 얻은 오일분획을 에틸아세테이트와 n-헥산의 혼합용매를 이동상으로 하여 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 분리한다. 이때, n-헥산 : 에틸아세테이트 = 10 : 1, 5 : 1, 3 : 1, 1 : 1 (v/v) 및 EtOAc 100%의 이동상 용매조건으로 하여, 11개의 분획물(분획 1~11)로 분리한다.

<26> 이중 저해활성이 강한 **분획 5**를 n-헥산과 에틸아세테이트의 혼합용매를 이

동상으로 하여 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 분리한다. 이때, n-헥산 : 에틸아세테이트 = 7 : 1 (v/v) 의 이동상 용매조건으로 전개시켜, 7개의 분획물(분획 5-1 ~ 5-7)로 분리한다. ACAT 저해활성이 뛰어난 분획 5-4를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 분리한다. 이때, 클로로포름 100%의 이동상 용매조건으로 하여 4개의 분획물(분획 5-4-1 ~ 5-4-4)로 분리한다. 분획 5-4-1에서 순수 활성물질인 화학식 1의 화합물(이소피마릭산, 76 mg)을 얻는다.

<27> 상기에서 실시한 첫 번째 컬럼에서 얻은 **분획 10**을 메틸렌클로라이드 : 메탄올 = 50 : 1 (v/v)의 이동상 용매조건으로 실리카겔 컬럼 크로마토그래피를 실시하여 14개의 분획(분획 10-1 ~ 10-14)으로 분리한다. 이때 활성분획 10-4를 메탄올 : 물 = 15 : 1의 이동상 용매조건으로 C18 역상 컬럼 크로마토그래피를 실시하여 11개의 분획(분획 10-4-1 ~ 10-4-11)으로 분리한다. 이중 저해활성이 강한 분획 10-4-5을 n-헥산 : 에틸아세테이트 = 50 : 1, 30 : 1, 10 : 1, 1 : 1 (v/v) 및 EtOAc 100%를 이동상 용매조건으로 실리카겔 컬럼 크로마토그래피를 실시하여 5개의 분획물(10-4-5-1 ~ 10-4-5-5)으로 분리한다. 분획 10-4-5-2에서 순수 활성물질인 화학식 2의 화합물(데히드로아비에틴올, 25 mg)을 얻는다.

<28> 또한, 첫 번째 컬럼에서 얻은 **분획 11**을 재결정 용매인 n-헥산 : 에틸아세테이트 = 5 : 1 (v/v)을 이용하여 순수 활성물질인 화학식 3의 화합물(카야디올, 40 mg)을 얻는다.

<29> 상기에서 실시한 두 번째 컬럼에서 14개의 분획 중 활성분획인 **분획 10-6**을 메탄올 : 물 = 10 : 1 (v/v)을 이동상 용매로 하여 C18 역상 컬럼 크로마토그래피

를 실시한 결과, 12 개의 분획물(분획 10-6-1 ~ 10-6-12)로 분리한다. 이중 활성분획 10-6-3을 이동상 용매로서 n-헥산 : 에틸아세테이트 = 15 : 1, 10 : 1, 5 : 1, 1 : 1 (v/v) 및 EtOAc 100%를 이동상 용매조건으로 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 분리하여, 5 개의 분획물(분획 10-6-3-1 ~ 10-6-3-5)로 분리한다. 분획 10-6-3-1에서 순수활성물질인 화학식 4의 화합물(델타-카딘올, 15 mg)을 얻는다.

<30> 본 발명에 따른 터페노이드계 화합물은 hACAT-1 및 hACAT-2에서 ACAT에 대한 활성을 효과적으로 억제한다.

<31> 따라서, 본 발명의 조성물은 콜레스테릴 에스테르의 합성 및 축적으로 유발되는 고지혈증 및 동맥경화증과 같은 심장순환계 질환의 예방 및 치료에 유용하게 사용할 수 있다.

<32> 본 발명의 조성물은 터페노이드계 화합물에 추가로 동일 또는 유사한 기능을 나타내는 유효성분을 1종 이상 함유할 수 있다.

<33> 본 발명의 조성물은, 투여를 위해서 상기 기재한 유효성분 이외에 추가로 약제학적으로 허용 가능한 담체를 1종 이상 포함하여 제조할 수 있다. 약제학적으로 허용 가능한 담체는 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 텍스트로즈 용액, 말토 텍스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 1 성분 이상을 혼합하여 사용할 수 있으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 첨가할 수 있다. 또한 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 윤활제를 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제로 제제화할 수 있다. 더 나아가 당분야의 적절한 방법으로 또는 Remington's

Pharmaceutical Science(최근판), Mack Publishing Company, Easton PA에 개시되어 있는 방법을 이용하여 각 질환에 따라 또는 성분에 따라 바람직하게 제제화할 수 있다.

<34> 본 발명의 조성물은 목적하는 방법에 따라 비경구 투여(예를 들어 정맥 내, 피하, 복강 내 또는 국소에 적용)하거나 경구 투여할 수 있으며, 투여량은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설율 및 질환의 중증도 등에 따라 그 범위가 다양하다. 본 발명에 따른 터페노이드계 화합물의 일일 투여량은 약 0.1~100mg/kg 이고, 바람직하게는 0.5~10mg/kg 이며, 하루 일회 내지 수회에 나누어 투여하는 것이 더욱 바람직하다.

<35> 본 발명의 터페노이드계 화합물을 마우스에 경구 투여하여 독성 실험을 수행한 결과, 경구 투여 독성시험에 의한 50% 치사량(LD₅₀)은 적어도 1,000mg/kg 이상인 안전한 물질로 판단된다.

<36> 본 발명의 조성물은 심장순환계 질환의 예방 및 치료를 위하여 단독으로, 또는 수술, 호르몬 치료, 약물 치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.

<37> 본 발명의 조성물은 심장순환계 질환의 개선을 목적으로 건강식품에 첨가될 수 있다. 본 발명의 터페노이드계 화합물을 식품 첨가물로 사용할 경우, 상기 터페노이드계 화합물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효 성분의 혼합량은 사용

목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조시 본 발명의 티페노이드계 화합물은 원료에 대하여 1~20 중량%, 바람직하게는 5~10 중량%의 양으로 첨가된다. 그러나, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.

<38> 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 초코렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강식품을 모두 포함한다.

<39> 본 발명의 건강음료 조성물은 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드, 말토스, 슈크로스와 같은 디사카라이드, 및 덱스트린, 사이클로덱스트린과 같은 폴리사카라이드, 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 감미제로서는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100ml당 일반적으로 약 0.01~0.04g, 바람직하게는 약 0.02~0.03g 이다.

<40> 상기 외에 본 발명의 조성물은 여러가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제,

착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그밖에 본 발명의 조성물은 천연 과일주스, 과일주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물 100 중량부 당 0.01~0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

<41> 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예 및 실험예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예 및 실험예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 실시예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

<42> **실시예 : 비자나무로부터 터페노이드계 화합물의 추출, 분리 및 정제**

<43> **1. 비자나무로부터 추출, 분리 및 정제**

<44> 대한민국 제주도에서 구입한 비자나무 잎 1 kg을 세척하여 건조시켰다. 건조된 비자나무 잎을 100% 메탄올 4 ℓ에 넣어 상온에서 3주동안 방치하고 여과지로 여과한 다음, 여액에 착콜(100 g)을 넣고 실온에서 12시간동안 교반하였다. 이 용액을 여과하고 감압하에서 농축하여 노란색의 유성물질을 얻었다. 여기에 물 200 ml를 넣어 현탁시키고, 여과지를 이용하여 여과하였다. 상기에서 얻은 상층을 에틸 아세테이트로 녹이고, 농축하여 노란색의 유성물질 40 g을 얻었다. 상기에서 얻은 농축액을 디클로로메탄에 녹인 후, n-헥산을 천천히 가하여 재결정을 한 다음 필터 글래스를 이용하여 여과하고, 액상을 농축하여 30 g의 유성물질을 얻었다.

<45> 이때, 상기에서 얻은 오일분획을 사람 아실 코에이: 콜레스테롤 아실전이 효소 1과 2에 대한 억제능을 측정한 결과, 저해효과를 나타내었다.

<46> 상기에서 얻은 오일분획의 일부 16g을 에틸아세테이트와 n-헥산의 혼합용매를 이동상으로 하여 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(실리카겔 : Merk, Art 9385, 컬럼크기 : $\phi 7 \times 40\text{cm}$)로 분리하였다. 이때, n-헥산 : 에틸아세테이트 = 10 : 1, 5 : 1, 3 : 1, 1 : 1 (v/v) 및 EtOAc 100%의 이동상 용매조건으로 각각 1000 ml씩을 전개시켜, 11개의 분획물(분획 1~11)로 분리하였으며, 각 분획물의 ACAT 저해 활성을 관찰하였다.

<47> 이중 저해활성이 강한 **분획 5**(6 g)를 n-헥산과 에틸아세테이트의 혼합용매를 이동상으로 하여 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(컬럼크기 : $\phi 4 \times 20 \text{ cm}$)로 분리하였다. 이때, n-헥산 : 에틸아세테이트 = 7 : 1 (v/v) 의 이동상 용매조건으로 전개시켜, 각각 250 ml씩 7개의 분획물(분획 5-1 ~ 5-7)로 분리하였다. ACAT 저해 활성이 뛰어난 분획 5-4(100 mg)를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(컬럼크기 : $\phi 2.5 \times 10 \text{ cm}$)로 분리하였다. 이때, 클로로포름 100%의 이동상 용매조건으로 전개시켜, 각각 50 ml씩 4개의 분획물(분획 5-4-1 ~ 5-4-4)로 분리하였다. 이때 분획 5-4-1에서 순수 활성물질인 화학식 1의 화합물(25 mg)을 얻었다.

<48> 상기에서 실시한 첫 번째 컬럼에서 얻은 **분획 10**(1.34 g)은 메틸렌클로라이드 : 메탄올 = 50 : 1 (v/v)의 이동상 용매조건으로 전개시키면서 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(컬럼크기 : $\phi 1.5 \times 20 \text{ cm}$)를 실시한 결과, 각각 50 ml씩 14개의 분획물(분획 10-1 ~ 10-14)로 분리하였다. 이때 활성분획 10-4(100 mg)를 메탄올 :

물 = 15 : 1의 이동상 용매조건으로 전개시키면서 C18 역상 컬럼 크로마토그래피 (컬럼크기 : $\phi 1.5 \times 10$ cm)를 실시한 결과, 각각 45 ml씩 11개의 분획물(분획 10-4-1 ~ 10-4-11)로 분리하였으며, 각 분획물의 ACAT 저해 활성을 관찰하였다. 이 중 저해활성이 강한 분획 10-4-5(72 mg)을 n-헥산 : 에틸아세테이트 = 50 : 1, 30 : 1, 10 : 1, 1 : 1 (v/v) 및 EtOAc 100%를 이동상 용매조건으로 전개시키면서 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(컬럼크기 : $\phi 1 \times 8$ cm)를 실시한 결과, 각각 30 ml씩 5개의 분획물(10-4-5-1 ~ 10-4-5-5)로 분리하였다. 분획 10-4-5-2에서 순수활성 물질인 화학식 2의 화합물(76 mg)을 얻었다.

<49> 또한, 첫 번째 컬럼에서 얻은 **분획 11**(149 mg)을 재결정 용매인 n-헥산 : 에틸아세테이트 = 5 : 1 (v/v)을 이용하여 화학식 3의 화합물(40 mg)을 얻었다.

<50> 상기에서 실시한 두 번째 컬럼에서 14개의 분획 중 활성분획인 **분획 10-6**(85 mg)을 메탄올 : 물 = 10 : 1 (v/v)을 이동상 용매로 사용하여 C18 역상 컬럼 크로마토그래피(컬럼크기 : $\phi 1.5 \times 13$ cm)를 실시한 결과, 45 ml씩 12 개의 분획물 (분획 10-6-1 ~ 10-6-12)로 분리하였으며, 이중 활성분획 10-6-3(40 mg)을 이동상 용매로서 n-헥산 : 에틸아세테이트 = 15 : 1, 10 : 1, 5 : 1, 1 : 1 (v/v) 및 EtOAc 100%를 이동상 용매조건으로 전개시키면서 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(컬럼크기 : $\phi 1 \times 7$ cm)로 분리하여, 각각 30 ml씩 5 개 분획물(분획 10-6-3-1 ~ 10-6-3-5)로 분리하였다. 이때 분획 10-6-3-1에서 순수활성물질인 화학식 4의 화합물(15 mg)을 얻었다.

2. 터페노이드계 화합물의 구조 분석

<51>

<52>

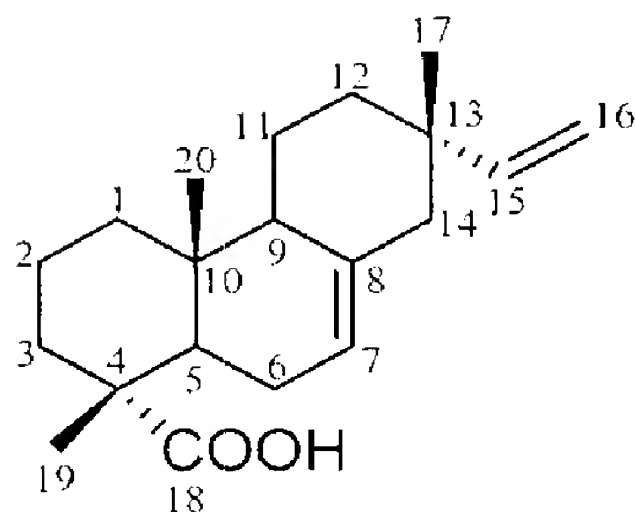
상기 1에서 얻은 물질은, VG 고분해능 GC/MS 분광기(VG high resolution GC/MS spectrometer, Election Ionization MS, Autospec-Ultima)를 사용하여 분자량 및 분자식을 결정하였으며, 선광도는 편광기(Jasco DIP-181 digital polarimeter)를 사용하여 측정하였다. 또한 핵자기공명(NMR) 분석(Bruker AMX 300, 500)을 통하여 ^1H NMR, ^{13}C NMR, 호모-코지(HOMO-COSY), HMQC(^1H -Detected heteronuclear Multiple-Quantum Coherence), HMBC(Heteronuclear Multiple-Bond Coherence), DEPT(Distortionless Enhancement by Polarization) 스펙트럼을 얻고, 분자구조를 결정하였다.

<53>

측정 결과는 하기와 같으며, 발표된 문헌의 것과 비교 분석한 결과, 화합물 1은 이소피마릭산(isopimaric acid) [Y.-H. Kuo and W.-C. Chen, *J. Chin. Chem. Soc.*, 1999, 46, 819], 화합물 2는 데히드로아비에틴올(dehydroabietinol) [H. L. Ziegler et al., *Planta Med.*, 2002, 68, 547], 화합물 3은 카야디올(kayadiol) [J. D. P. Teresa et al., *Argic. Biol. Chem.*, 1971, 35, 1068] 및 화합물 4는 텔타-카딘올(δ -cadinol) [*Bull, Chem, Soc, Jpn.* 1963, 37, 1053]로 확인하였다.

<54>

[화합물 1] : 이소피마릭산



<56>

1) 물성 : 무색 프리즘, 녹는점(M.P.) = 185~187℃

<57>

2) 선광도 : $[\alpha]_D^{25} +10.5^\circ$ (c=0.42, EtOH)

<58>

3) 분자량 : 302

<59>

4) 분자식 : $C_{20}H_{30}O_2$

<60>

5) 1H -NMR($CDCl_3$, 500MHz) δ 0.86 (s, 3H, H-19), 0.91 (s, 3H, H-20), 1.12

(m, 1H), 1.27 (s, 3H, H-17), 1.37 (m, 2H), 1.48 (m, 1H), 1.55 (m, 3H), 1.67-2.03 (m, 9H), 4.87 (dd, $J = 1.7, 10.8$ Hz, 1H, H-16ab, H-16ax), 4.93 (dd, $J = 0.6, 17.5$ Hz, 1H, H-16ba, H-16bx), 5.32 (d like, $J = 4.1$ Hz, 1H, H-7), 5.80 (dd, $J = 10.8, 17.6$ Hz, H-15ax, H-15bx), 12.1 (brs, 1H, -COOH).

<61>

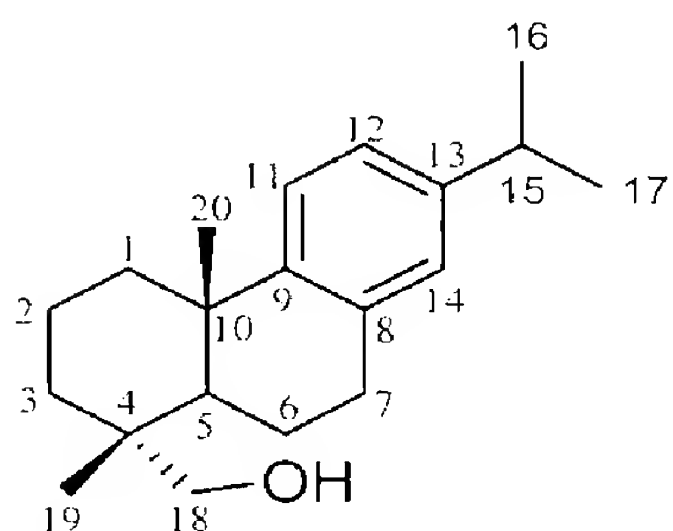
6) ^{13}C -NMR($CDCl_3$, 125MHz) δ 15.3 (C-20), 17.1 (C-19), 17.9 (C-2), 20.0

(C-17), 25.2 (C-6), 35.0 (C-10), 36.1 (C-12), 36.8 (C-3), 37.0 (C-13), 38.8 (C-1), 45.0 (C-5), 46.1 (C-4), 46.3 (C-14), 52.0 (C-9), 109.3 (C-16), 121.0

(C-7), 135.7 (C-8), 150.3 (C-15), 185.6 (C-18).

<62> 7) EIMS(rel. int.) m/z $[M]^+$ 105 (40.7), 187 (36.9), 241 (47.8), 257 (30.9), 273 (26.9), 287 (47.1), 302 (100.0).

<63> [화합물 2] : 데히드로아비에틴올



<65> 1) 물성 : 점성 오일

<66> 2) 선광도 : $[\alpha]_D^{25} +50^\circ$ (c=0.24, CHCl₃)

<67> 3) 분자량 : 286

<68> 4) 분자식 : C₂₀H₃₀O

<69> 5) ¹H-NMR(CDCl₃, 300MHz) δ 0.90 (s, 3H, H-19), 1.22 (s, 3H, H-20), 1.23

(t like, $J = 3.6\text{Hz}$, 6H, H-16, 17), 1.34-1.50 (m, 3H, H-1 α , H-3), 1.63-1.82

(m, 5H, H-2, 5, 6), 2.29 (d like, $J = 12.6\text{Hz}$, 1H, H-1 β), 2.79-2.92 (m, 3H,

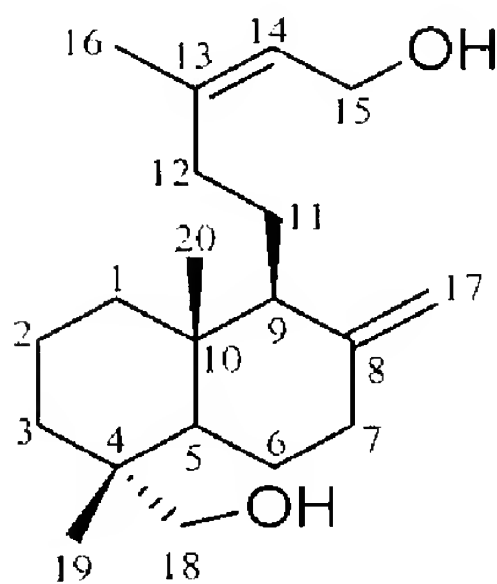
H-7, 15), 3.24 (d, $J = 11.1\text{Hz}$, 1H, H-18 α), 3.48 (d, $J = 11.1\text{Hz}$, 1H, H-18 β),

6.89 (s, 1H, H-14), 6.99 (d, $J = 8.1\text{Hz}$, 1H, H-12), 7.19 (d, $J = 7.8\text{Hz}$, 1H, H-11).

<70> 6) ^{13}C -NMR(CDCl_3 , 75MHz) δ 17.4 (C-19), 18.6 (C-2), 18.8 (C-6), 24.0 (C-16, 17), 25.3 (C-20), 30.1 (C-7), 33.4 (C-15), 35.1 (C-3), 37.3 (C-10), 37.8 (C-4), 38.4 (C-1), 43.9 (C-5), 72.2 (C-18), 123.8 (C-12), 124.2 (C-11), 126.8 (C-14), 134.7 (C-8), 145.5 (C-13), 147.3 (C-9).

<71> 7) EIMS(rel. int.) m/z $[\text{M}]^+$ 159 (47.5), 173 (60.9), 185 (27.0), 253 (100), 271 (87.2), 286 (32.6).

<72> **[화합물 3] : 카야디올**



<74> 1) 물성 : 무정형 분말

<75> 2) 선광도 : $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +18.4^\circ$ ($c=0.3$, CHCl_3)

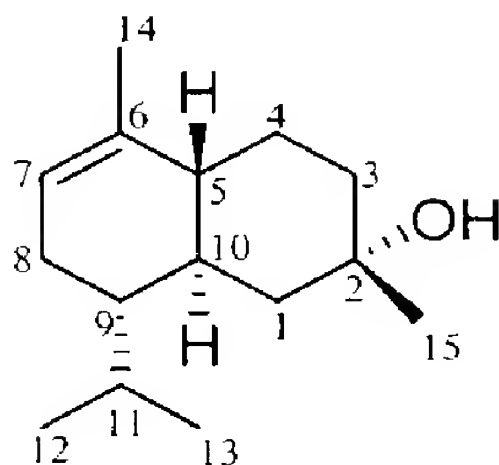
<76> 3) 분자량 : 306

<77> 4) 분자식 : C₂₀H₃₄O₂

<78> 5) ¹H-NMR(CDCl₃, 500MHz) δ 0.72 (s, 3H, H-20), 0.75 (s, 3H, H-18), 1.02 (dt, *J* = 4.2, 12.7Hz, 1H), 1.28 (m, 1H), 1.35 (dt, *J* = 4.2, 12.7Hz, 1H), 1.37-1.48 (m, 4H), 1.55-1.65 (m, 5H), 1.67 (s, 3H, H-16), 1.76-1.84 (m, 2H), 2.00 (dt, *J* = 4.6, 12.6Hz, 1H), 2.38 (m, 1H), 3.10 (d, *J* = 10.9Hz, 1H, H-19a), 3.42 (d, *J* = 10.9Hz, 1H, H-19b), 4.15 (d, *J* = 6.7Hz, 2H, H-15), 4.52 (s, 1H, H-17a), 4.84 (s, 1H, H-17b), 5.39 (t, *J* = 6.6Hz, 1H, H-14).

<79> 6) ¹³C-NMR(CDCl₃, 125MHz) δ 15.0 (C-20), 16.4 (C-16), 17.6 (C-2), 18.7 (C-11), 21.8 (C-6), 24.2 (C-19), 35.4 (C-3), 38.0 (C-1), 38.1 (C-12), 38.4 (C-10), 38.6 (C-7), 39.5 (C-4), 48.5 (C-5), 56.2 (C-9), 59.4 (C-15), 72.0 (C-18), 105.5 (C-17), 123.1 (C-14), 140.5 (C-13), 148.3 (C-8).

<80> [화합물 4] : 델타-카딘올



<82> 1) 물성 : 흰색 분말, 녹는점(M.P.) = 135.5 ~ 136°C

<83> 2) 선광도 : $[\alpha]_D^{25} -100^\circ$ (c=0.24, CHCl₃)

<84> 3) 분자량 : 222

<85> 4) 분자식 : C₁₅H₂₆O

<86> 5) ¹H-NMR(CDCl₃, 300MHz) δ 0.79 (d, J = 6.9Hz, 3H, H-12 or H-13), 0.87 (d, J = 6.6Hz, 3H, H-13 or H-12), 1.09 (m, 1H), 1.28 (m, 1H), 1.27 (s, 3H, H-15), 1.41-1.60 (m, 6H), 1.63 (s, 3H, H-14), 1.85-2.01 (m, 5H), 5.51 (d like, J = 4.2Hz, 1H, H-7).

<87> 6) ¹³C-NMR(CDCl₃, 75MHz) δ 15.3, 18.5, 21.5, 21.7, 23.6, 26.4, 27.9, 31.1, 35.3, 36.8, 44.1, 45.4, 72.5 (C-2), 124.6 (C-7), 134.3 (C-6).

<88> **실험예 1 : 본 발명의 터페노이드계 화합물의 ACAT 활성화에 미치는 영향**

<89> 본 발명의 터페노이드계 화합물의 ACAT 활성화에 미치는 영향을 알아보기 위하여, 하기와 같은 실험을 수행하였다.

<90> **1. ACAT 효소원의 제조**

<91> 사람 ACAT-1 및 ACAT-2의 활성화에 미치는 영향을 알아보기 위하여 베쿨로바이러스 발현체제를 이용하여 사람 ACAT-1과 ACAT-2 단백질을 얻었다.

<92> 사람 간 cDNA library screening을 통하여 얻어진 hACAT-1과 hACAT-2의 cDNA

를 베클로바이러스 전달 벡터에 삽입하고, 곤충세포인 sf9 세포에 도입하여 바이러스를 제조하였다. 그 후, 플라크 정제(plaque purification) 방법으로 hACAT-1과 hACAT-2의 재조합 바이러스를 분리한 후 3 차례의 증폭과정을 거쳐 viral stock의 titer를 높였다. 단백질 발현효율이 좋은 Hi5 곤충세포에 재조합 바이러스를 감염 다중도(Multiplicity of Infection)가 1이 되도록 감염시킨 후 27℃에서 하루 동안 진탕배양하였다.

<93> 배양된 hACAT-1과 hACAT-2는 각각 과량 발현된 Hi5 세포들로부터 마이크로솜 분획을 분리하기 위하여, 500 xg에서 15 분간 원심분리하여 세포들을 모으고 저장 완충액(hypotonic buffer)에서 급냉동 급해동 방법으로 세포를 깼 후 100,000 xg에서 한시간 동안 초원심분리하였다.

<94> 얻어진 마이크로솜 분획들은 단백질 농도가 8~10 mg/ml이 되도록 저장완충액으로 현탁하여 사용 전까지 저온냉동기에 보관하였다.

<95> 2. ACAT 활성 측정

<96> ACAT 활성의 측정은 [$1-^{14}\text{C}$] 올레오일-코에이(oleoyl-CoA)를 기질로 하여 Brecher & Chan의 방법 [P. Brecher and C. Chan, *Biochim. Biophys. Acta* **1980**, 617, 458]을 일부 수정하여 사용하였다.

<97> 10 μl 의 시료(상기 실시예에서 제조한 터페노이드계 화합물), 상기 1에서 얻은 4.0 μl 의 마이크로솜 용액, 20.0 μl 의 활성분석 완충액(0.5 M KH_2PO_4 , 10 mM

DTT, pH 7.4), 15.0 μl 의 지방이 제거된 우혈청알부민 (BSA; bovine serum albumin, 저장액 농도 40 mg/ml), 2.0 μl 의 콜레스테롤(저장액 농도 20 mg/ml), 41.0 μl 의 H₂O를 가하여 37°C에서 15 분간 예비 반응시켰다. 이 반응액에 8 μl 의 [1-¹⁴C] 올레오일-코에이(0.05 μCi , 최종농도 : 10 μM)를 첨가하여 다시 37°C 에서 30 분간 반응시킨 후 이소프로판올 : 헵탄 혼합물(4 : 1 ; v/v) 1 ml을 가하여 반응을 정지시킨 후, 600 μl 의 헵탄과 200 μl 의 0.1 M KH₂PO₄(pH 7.4)을 가하고, 혼합물을 볼텍스(vortex)로 격렬하게 혼합한 후, 300 xg에서 5 분 동안 원심분리를 하였다.

<98> 원심분리하여 얻은 100 μl 의 상층액을 신틸레이션 병에 넣고, 신틸레이션 액 (Lumac) 4ml을 가하였다. 이 혼합물의 방사선량은 1450 마이크로베타 액체 신틸레이션 계수기 (1450 Microbeta liquid scintillation counter, Wallacoy, Finland)로 측정하였다.

<99> ACAT 활성은 측정된 방사선량으로부터 시간당 방사선량을 계산하여 1분동안 단백질 1mg 당 합성된 콜레스테릴 올레이트 피코몰(피코몰/분/mg 단백질)로 계산하였다.

<100> 결과는 표 1에 나타내었다.

【표 1】

<101>

화합물		IC ₅₀ (μM)	
		hACAT-1	hACAT-2
1	테히드로아비에틴올	41	60
2	이소피마릭산	229	263

3	카야디올	120	155
4	델타-카디올	79	-

<102> 표 1에 나타난 바와 같이, 본 발명의 터페노이드계 화합물은 hACAT-1 및 hACAT-2에서 아실 코에이: 콜레스테롤 아실전이 효소에 대한 저해 활성이 매우 우수함을 알 수 있다.

<103> 따라서, 본 발명에 따른 터페노이드계 화합물은 콜레스테릴 에스테르의 합성 및 축적으로 유발되는 고지혈증 및 동맥경화증과 같은 심장순환계 질환의 예방 또는 치료에 유용하게 사용할 수 있다.

<104> **실험예 2 : 마우스에 대한 경구투여 급성 독성실험**

<105> 본 발명에 따른 터페노이드계 화합물의 급성 독성을 알아보기 위하여, 하기 와 같은 실험을 수행하였다.

<106> 4주령의 특정 병원체 부재(specific pathogens free) ICR 마우스로서 암컷 12 마리와 수컷 12마리(암수 각각 3마리/용량군)를 온도 22±3℃, 습도 55±10%, 조명 12L/12D의 동물실내에서 사육하였다. 마우스는 실험에 사용되기 전 1주일 정도 순화시켰다. 실험동물용 사료((주)제일제당, 마우스 및 랫트용) 및 음수는 멸균한 후 공급하였으며 자유섭취시켰다.

<107> 상기 실시예에서 제조한 터페노이드계 화합물(이소피마릭산, 데히드로아비에틴올, 카야디올, 델타-카디올)을 0.5% 트윈 80을 용매로 하여 50mg/ml 농도로 조제

한 후, 마우스 체중 20g 당 0.04ml(100mg/kg), 0.2ml(500mg/kg), 0.4ml (1,000mg/kg)씩 경구투여하였다. 시료는 단회 경구 투여하였으며, 투여 후 7 일 동안 다음과 같이 부작용 또는 치사 여부를 관찰하였다. 즉, 투여당일은 투여 후 1 시간, 4 시간, 8 시간, 12 시간 뒤에, 그리고 투여 익일부터 7 일째까지는 매일 오전, 오후 1회 이상씩 일반증상의 변화 및 사망동물의 유무를 관찰하였다.

<108> 또한, 투여 7 일째에 동물을 치사시켜 해부한 후 육안으로 내부 장기를 검사하였다. 투여당일부터 1 일 간격으로 체중의 변화를 측정하여 터페노이드계 화합물에 의한 동물의 체중 감소 현상을 관찰하였다.

<109> 시험 결과, 시험물질을 투여한 모든 마우스에서 특기할 만한 임상증상은 없었고 폐사된 마우스도 없었으며, 또한 체중변화, 혈액검사, 혈액생화학 검사, 부검 소견 등에서도 독성변화는 관찰되지 않았다.

<110> 따라서, 본 발명에 따른 터페노이드계 화합물은 모든 마우스에서 1,000mg/kg 까지 독성변화를 나타내지 않았으며, 경구투여 최소치사량(LD₅₀)이 적어도 1,000mg/kg 이상인 안전한 물질로 판단되었다.

<111> 하기에 본 발명의 조성물을 위한 제제예를 예시한다.

<112> **제제예 1 : 약학적 제제의 제조**

<113> 화학식 1 내지 화학식 4로 표시되는 터페노이드계 화합물 중 어느 하나의 화합물을 포함하는 약학적 제제들을 다음과 같이 제조하였다.

<114>	1. 산제의 제조	
<115>	터페노이드계 화합물	2g
<116>	유당	1g
<117>	상기의 성분을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조하였다.	
<118>	2. 정제의 제조	
<119>	터페노이드계 화합물	100mg
<120>	옥수수전분	100mg
<121>	유 당	100mg
<122>	스테아린산 마그네슘	2mg
<123>	상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조하였다.	
<124>	3. 캡슐제의 제조	
<125>	터페노이드계 화합물	100mg
<126>	옥수수전분	100mg
<127>	유 당	100mg
<128>	스테아린산 마그네슘	2mg
<129>	상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 캡슐제의 제조방법에 따라서 젤라틴 캡슐	

에 충전하여 캡슐제를 제조하였다.

<130> 4. 주사액제의 제조

<131> 터페노이드계 화합물 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$

<132> 묽은 염산 BP pH 3.5로 될 때까지

<133> 주사용 염화나트륨 BP 최대 1ml

<134> 적당한 용적의 주사용 염화나트륨 BP 중에 터페노이드계 화합물을 용해시키고, 생성된 용액의 pH를 묽은 염산 BP를 사용하여 pH 3.5로 조절하고, 주사용 염화나트륨 BP를 사용하여 용적을 조절하고 충분히 혼합하였다. 용액을 투명유리로 된 5 ml 타입 I 앰플 중에 충전시키고, 유리를 용해시킴으로써 공기의 상부 격자하에 봉입시키고, 120°C에서 15분 이상 오토클레이브시켜 살균하여 주사액제를 제조하였다.

<135> **제제예 2 : 식품의 제조**

<136> 화학식 1 내지 화학식 4로 표시되는 터페노이드계 화합물 중 어느 하나의 화합물을 포함하는 식품들을 다음과 같이 제조하였다.

<137> 1. 조리용 양념의 제조

<138> 터페노이드계 화합물 0.2 ~ 10 중량%로 건강 증진용 조리용 양념을 제조하였다.

<139> 2. 토마토 케찹 및 소스의 제조

<140> 터페노이드계 화합물 0.2 ~ 1.0 중량%를 토마토 케찹 또는 소스에 첨가하여 건강 증진용 토마토 케찹 또는 소스를 제조하였다.

<141> 3. 밀가루 식품의 제조

<142> 터페노이드계 화합물 0.1 ~ 5.0 중량%를 밀가루에 첨가하고, 이 혼합물을 이용하여 빵, 케이크, 쿠키, 크래커 및 면류를 제조하여 건강 증진용 식품을 제조하였다.

<143> 4. 스프 및 육즙(gravies)의 제조

<144> 터페노이드계 화합물 0.1 ~ 1.0 중량%를 스프 및 육즙에 첨가하여 건강 증진용 육가공 제품, 면류의 수프 및 육즙을 제조하였다.

<145> 5. 그라운드 비프(ground beef)의 제조

<146> 터페노이드계 화합물 10 중량%를 그라운드 비프에 첨가하여 건강 증진용 그라운드 비프를 제조하였다.

<147> 6. 유제품(dairy products)의 제조

<148> 터페노이드계 화합물 0.1 ~ 1.0 중량%를 우유에 첨가하고, 상기 우유를 이용
하여 버터 및 아이스크림과 같은 다양한 유제품을 제조하였다.

<149> 7. 선식의 제조

<150> 현미, 보리, 찹쌀, 율무를 공지의 방법으로 알파화시켜 건조시킨 것을 배전
한 후 분쇄기로 입도 60메쉬의 분말로 제조하였다.

<151> 검정콩, 검정깨, 들깨도 공지의 방법으로 찌서 건조시킨 것을 배전한 후 분
쇄기로 입도 60메쉬의 분말로 제조하였다.

<152> 터페노이드계 화합물을 진공 농축기에서 감압·농축하고, 분무, 열풍건조기
로 건조하여 얻은 건조물을 분쇄기로 입도 60메쉬로 분쇄하여 건조분말을 얻었다.

<153> 상기에서 제조한 곡물류, 종실류 및 터페노이드계 화합물의 건조분말을 다음
의 비율로 배합하여 제조하였다.

<154> 곡물류(현미 30중량%, 율무 15중량%, 보리 20중량%),

<155> 종실류(들깨 7중량%, 검정콩 8중량%, 검정깨 7중량%),

<156> 터페노이드계 화합물의 건조분말(1 중량%),

<157> 영지(0.5중량%),

<158> 지황(0.5중량%)

<159> **제제예 3 : 음료의 제조**

<160> 화학식 1 내지 화학식 4로 표시되는 터페노이드계 화합물 중 어느 하나의 화합물을 포함하는 음료를 다음과 같이 제조하였다.

<161> 1. 탄산음료의 제조

<162> 설탕 5~10%, 구연산 0.05~0.3%, 카라멜 0.005~0.02%, 비타민 C 0.1~1%의 첨가물을 혼합하고, 여기에 79~94%의 정제수를 섞어서 시럽을 만들고, 상기 시럽을 85~98℃에서 20~180초간 살균하여 냉각수와 1:4의 비율로 혼합한 다음 탄산가스를 0.5~0.82% 주입하여 터페노이드계 화합물을 함유하는 탄산음료를 제조하였다.

<163> 2. 건강음료의 제조

<164> 액상과당(0.5%), 올리고당(2%), 설탕(2%), 식염(0.5%), 물(75%)과 같은 부재료와 터페노이드계 화합물을 균질하게 배합하여 순간 살균을 한 후 이를 유리병, 패트병 등 소포장 용기에 포장하여 건강음료를 제조하였다.

<165> 3. 야채주스의 제조

<166> 터페노이드계 화합물 0.5g을 토마토 또는 당근 주스 1,000ml에 가하여 건강증진용 야채주스를 제조하였다.

<167> 4. 과일주스의 제조

<168> 터페노이드계 화합물 0.1g을 사과 또는 포도 주스 1,000ml에 가하여 건강 증진용 과일주스를 제조하였다.

【발명의 효과】

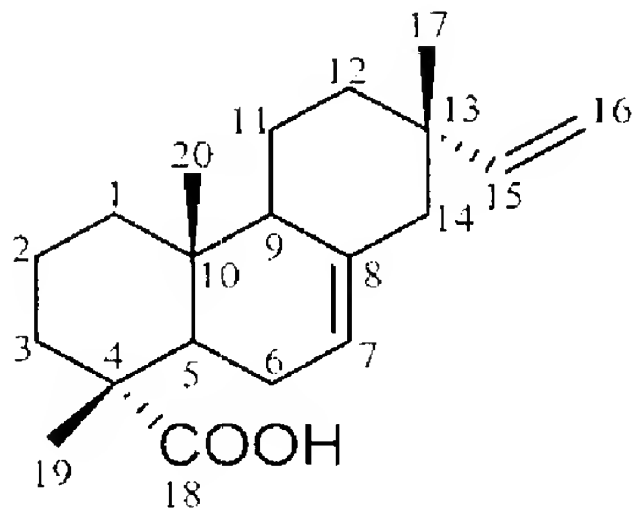
<169> 본 발명에 따른 터페노이드계 화합물은 ACAT에 대한 활성을 효과적으로 억제함으로써, 콜레스테릴 에스테르의 합성 및 축적으로 유발되는 고지혈증 및 동맥경화증과 같은 심장순환계 질환의 예방 및 치료에 유용하게 사용할 수 있다.

【특허청구범위】

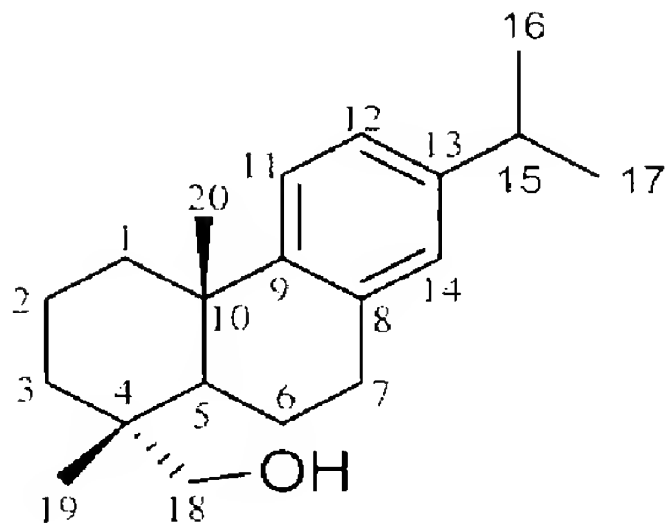
【청구항 1】

하기 화학식 1 내지 화학식 4로 표시되는 테페노이드계 화합물 중 어느 하나 또는 그 이상의 화합물을 유효성분으로 하는 심장순환계 질환의 예방 및 치료제.

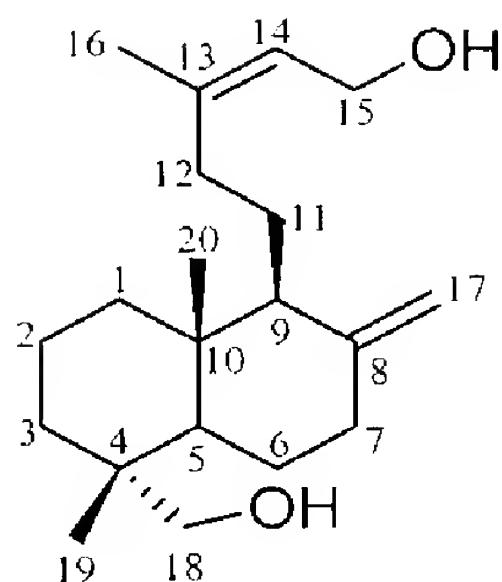
<화학식 1>



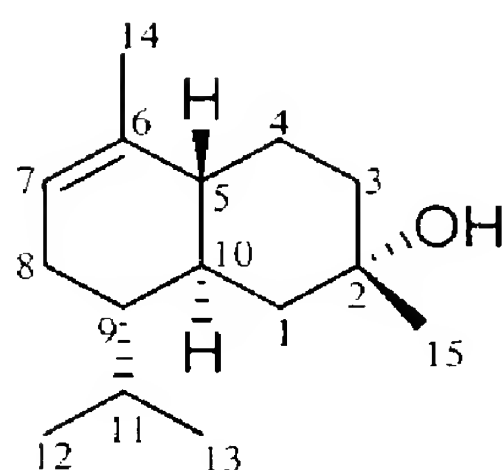
<화학식 2>



<화학식 3>



<화학식 4>



【청구항 2】

제 1항에 있어서, 상기 테페노이드계 화합물은 비자나무로부터 추출·분리·정제하여 얻은 것임을 특징으로 하는 심장순환계 질환의 예방 및 치료제.

【청구항 3】

제 1항 또는 제 2항에 있어서, 상기 심장순환계 질환은 고지혈증 및 동맥경화증인 것을 특징으로 하는 심장순환계 질환의 예방 및 치료제.